

EFEKTIFITAS NANOPARTIKEL PERAK SEBAGAI ANTIKONTAMINAN DALAM STERILISASI DAN MEDIA PADA KULTUR *IN VITRO* TANAMAN PORANG (*Amorphophallus muelleri* Bl.)

EFFECTIVENESS OF SILVER NANOPARTICLES AS ANTICONTAMINANTS IN STERILIZATION AND MEDIA IN *IN VITRO* CULTURE OF PORANG (*Amorphophallus muelleri* Bl.)

Mohammad Nur Khozin*, Ahmad Abrar Zaki, dan Didik Puji Restanto

Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jember, Indonesia

* Corresponding Author. E-mail address: nurkhozin@unej.ac.id

ARTICLE HISTORY:

Received: 29 July 2023

Peer Review: 11 September 2023

Accepted: 11 March 2026

KATA KUNCI:

Kultur jaringan,
nanoteknologi, nanopartikel
perak, sterilisasi

KEYWORDS:

Culture in vitro,
nanotechnology, silver
nanoparticles, sterilization

ABSTRAK

Sterilisasi pada kultur *in vitro* masih menjadi kendala utama karena tingginya tingkat kontaminasi serta penggunaan bahan sterilan yang bersifat toksik terhadap jaringan eksplan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi konsentrasi dan lama perendaman eksplan dalam larutan nanopartikel perak (AgNPs) serta penambahan AgNPs pada media terhadap keberhasilan sterilisasi daun lapang tanaman porang (*Amorphophallus muelleri* Bl.). Penelitian disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 24 kombinasi perlakuan yang diulang sebanyak tiga kali. Parameter yang diamati meliputi persentase eksplan steril dan survive, kontaminasi bakteri, kontaminasi jamur, serta kedinian munculnya kontaminasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan AgNPs memberikan pengaruh yang berbeda terhadap keberhasilan sterilisasi. Perlakuan K6 (perendaman AgNPs 100 ppm selama 5 menit dengan penambahan AgNPs 2 ppm pada media) menunjukkan hasil terbaik dengan persentase eksplan steril dan survive mencapai 100%.

ABSTRACT

Sterilization in *in vitro* culture remains a major challenge due to high contamination rates and the use of sterilizing agents that are toxic to explant tissues. This study aimed to evaluate the effects of the combination of silver nanoparticle (AgNP) concentration and explant immersion duration, as well as the addition of AgNPs to the culture medium, on the success of sterilization of field-derived porang (*Amorphophallus muelleri* Bl.) leaf explants. The experiment was arranged in a Completely Randomized Design with 24 treatment combinations, each replicated three times. The observed parameters included the percentage of sterile and surviving explants, bacterial contamination, fungal contamination, and the time of contamination onset. The results indicated that the combination of AgNP treatments had varying effects on sterilization success. Treatment K6 (immersion in 100 ppm AgNPs for 5 minutes with the addition of 2 ppm AgNPs to the culture medium) produced the best results, achieving 100% sterile and surviving explants.

1. PENDAHULUAN

Porang (*Amorphophallus muelleri*) merupakan tanaman yang mampu dijadikan sebagai bahan pangan karena mengandung kadar karbohidrat 80-85% dan glukomanan 67% (Lindriati *et al.*, 2018). Dari sifat glukoman tersebut mampu menjadi pengaruh kualitas fisik produk pangan diiringi dengan meningkatnya penerimaan produk pangan terhadap konsumen (Andyanie, 2016). Total ekspor produk porang pada tahun 2017 mencapai 5.505 ton dan mengalami peningkatan 2020 sebesar 16.000 ton dengan total ekspor produk porang pada 2017-2020 mencapai 41.550 ton (BPS, 2017-2020). Tingginya minat petani dalam melakukan budidaya porang di Indonesia, serta tingginya nilai ekspor produk porang mengakibatkan ketidakseimbangan antara kebutuhan dan ketersediaan bahan tanam. Ketidakseimbangan antara kebutuhan dan ketersediaan bahan tanam tersebut berdampak juga terhadap harga dan bahan tanam porang yang semakin mahal dan mengalami kelangkaan akibat proses budidayanya.

Pada umumnya bahan tanam yang digunakan petani adalah bulbil tanaman porang. Penggunaan bahan tanam tersebut memiliki kendala masa dormansi yaitu bergantung pada musim yang biasanya membutuhkan waktu sekitar 1,5-2 bulan, sehingga menjadikan perbanyakan tanaman porang secara konvensional membutuhkan waktu yang relatif lama (Gultom, 2021). Masa dormansi pada bahan tanam tersebut menjadikan permasalahan dalam budidaya tanaman porang karena tidak dapat dilakukan setiap saat, sehingga perlu adanya alternatif dalam penyediaan bahan tanam tanaman porang dengan ketersediaan dalam jumlah yang banyak dan tidak terkendala oleh musim (Saefudin *et al.*, 2021). Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah melalui teknik kultur *in vitro* sebagai usaha perbanyakan tanaman porang. Kultur *in vitro* banyak dilakukan dalam memproduksi bibit dengan jumlah yang besar untuk mengatasi ketersediaan bahan tanam yang terbatas (Ibrahim, 2019). Keberhasilan kultur *in vitro* dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain jenis eksplan, komposisi media kultur, kondisi fisiologis tanaman induk, tingkat kontaminasi, serta efektivitas proses sterilisasi. Oleh karena itu, setiap tahapan kultur jaringan harus dioptimalkan agar eksplan tetap hidup dan mampu beregenerasi secara optimal (George *et al.*, 2008; Loyola-Vargas & Ochoa-Alejo, 2018).

Terlepas dari kelebihan yang ada, perbanyakan menggunakan teknik kultur jaringan pada saat ini masih sering terkendala pada proses sterilisasi.

Proses sterilisasi merupakan tahapan awal yang penting untuk menghilangkan kontaminan pada eksplan. Eksplan dari lapang memiliki potensi tinggi membawa kontaminan berupa bakteri dan virus yang dapat mempengaruhi keberhasilan teknik kultur *in vitro* (Shofiyani, Purnawanto and Aziz, 2020). Berdasarkan penelitian Adawiyah (2021) menyatakan, bahwa larutan alkohol, kloroks, fungisida, dan bakterisida merupakan bahan yang sering digunakan dalam kegiatan sterilisasi eksplan. Akan tetapi seringkali masih kurang maksimal dalam menekan kontaminan yang ada pada eksplan lapang, terlebih lagi penggunaan berbagai macam bahan dan konsentrasi yang pekat kurang efisien dan juga dapat merusak jaringan eksplan yang menyebabkan jaringan pada eksplan tidak dapat ditumbuhkan. Keberhasilan sterilisasi eksplan daun porang sangat dipengaruhi oleh jenis dan kombinasi bahan sterilan yang digunakan.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kombinasi natrium hipoklorit (NaOCl) dan alkohol 70% lebih efektif dalam menekan kontaminasi dan browning dibandingkan penggunaan NaOCl tunggal, meskipun tingkat eksplan hidup yang diperoleh masih relatif terbatas (Rananda and Khozin, 2023). Permasalahan penggunaan bahan sterilisasi pada kultur *in vitro* tersebut perlu adanya solusi yaitu penggunaan bahan yang lebih efektif dan efisien, serta tidak merusak jaringan pada eksplan. Nanopartikel memiliki potensi sebagai bahan sterilisasi karena diketahui memiliki kemampuan sebagai antikonaminan. Salah satu jenis nanopartikel yang dimanfaatkan sebagai antikonaminan adalah nanopartikel perak (AgNPs). AgNPs diketahui dapat menekan pertumbuhan

bakteri dengan cara membebaskan ion perak yang dapat merusak RNA dan DNA bakteri, sehingga replikasi bakteri menjadi terhambat (Ariyanta, 2016). Selain berperan sebagai agen antimikroba, keberhasilan kultur *in vitro* juga dipengaruhi oleh kemampuan jaringan tanaman dalam melakukan pembelahan sel, pembentukan kalus, serta regenerasi tunas. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa kombinasi media kultur, zat pengatur tumbuh, dan nanopartikel perak mampu meningkatkan organogenesis serta efisiensi regenerasi melalui pengaturan aktivitas etilen dan keseimbangan reactive oxygen species (ROS). Perkembangan nanoteknologi telah membuka peluang baru dalam bidang kultur jaringan tanaman, terutama melalui pemanfaatan nanopartikel sebagai agen antimikroba sekaligus stimulator regenerasi. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa nanopartikel logam mampu meningkatkan efisiensi mikropopagasi dengan menekan kontaminasi, meningkatkan pembentukan kalus, serta mempercepat organogenesis apabila digunakan pada konsentrasi optimum (Prasad et al., 2024; Gunasena, 2024). Oleh karena itu, optimasi komposisi media dan penggunaan AgNPs menjadi faktor penting dalam meningkatkan keberhasilan kultur *in vitro* pada berbagai spesies tanaman. (Khozin et al., 2025a; Khozin et al., 2025b; Khozin et al., 2025c; Khozin et al., 2026).

Dari permasalahan dan adanya potensi tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait penggunaan AgNPs sebagai bahan sterilisasi kultur *in vitro*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi konsentrasi dan lama perendaman eksplan dalam larutan nanopartikel perak (AgNPs) serta penambahan AgNPs pada media terhadap tingkat keberhasilan sterilisasi, persentase eksplan steril dan survive, serta kontaminasi bakteri dan jamur pada kultur *in vitro* tanaman porang (*Amorphophallus muelleri* Bl.). Selain efektivitas sebagai antikonaminan, penggunaan AgNPs juga perlu mempertimbangkan aspek fisiologis jaringan tanaman karena respons setiap spesies dipengaruhi oleh jenis eksplan, media kultur, dan konsentrasi nanopartikel yang digunakan (Singh & Ahamad, 2022; Rohela et al., 2024).

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2022 sampai Maret 2023. Adapun alat yang digunakan standar kultur jaringan dan *Laminar Air Flow* (LAF). Bahan tanam yang digunakan adalah tunas tanaman porang berasal dari lapang, komponen media dasar MS (*Murashige Skoog*), agar, aquades steril, sukrosa, nanopartikel perak (AgNPs), Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) golongan auksin NAA (*Naphtaleneaceticacid*) dan sitokinin BAP (*Benzylaminopurine*), alkohol 70%, dan natrium hipoklorit/NaOCl. Metode dan pelaksanaan penelitian ini meliputi : persiapan alat dan bahan, pembuatan media, persiapan eksplan, sterilisasi eksplan, dan penanaman eksplan.

Eksplan daun porang yang berasal dari lapang dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, kemudian direndam dalam larutan deterjen selama ± 10 menit dan dibilas menggunakan aquades steril. Selanjutnya, eksplan disterilisasi menggunakan alkohol 70% selama 30 detik, kemudian direndam dalam larutan natrium hipoklorit (NaOCl). Setelah proses sterilisasi dasar, eksplan direndam dalam larutan nanopartikel perak (AgNPs) sesuai dengan kombinasi konsentrasi dan lama perendaman pada masing-masing perlakuan. Eksplan kemudian dibilas sebanyak tiga kali menggunakan aquades steril dan ditanam pada media MS yang telah ditambahkan AgNPs sesuai dengan perlakuan. Pemilihan konsentrasi AgNPs didasarkan pada konsep bahwa konsentrasi rendah umumnya memberikan efek stimulatif terhadap pertumbuhan jaringan, sedangkan konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menghambat pembelahan sel akibat meningkatnya stres oksidatif (Khozin et al., 2026; Prasad et al., 2024).

Tabel 1. Perlakuan Kombinasi Konsentrasi dan Lama Perendaman Eksplan Serta Pemberian Konsentrasi AgNPs pada Media

Perlakuan	Konsentrasi dan Lama Perendaman Eksplan pada AgNPs	Konsentrasi AgNPs pada Media
K1	0 ppm selama 0 menit	0 ppm
K2	0 ppm selama 0 menit	2 ppm
K3	0 ppm selama 0 menit	4 ppm
K4	0 ppm selama 0 menit	6 ppm
K5	100 ppm selama 5 menit	0 ppm
K6	100 ppm selama 5 menit	2 ppm
K7	100 ppm selama 5 menit	4 ppm
K8	100 ppm selama 5 menit	6 ppm
K9	250 ppm selama 5 menit	0 ppm
K10	250 ppm selama 5 menit	2 ppm
K11	250 ppm selama 5 menit	4 ppm
K12	250 ppm selama 5 menit	6 ppm
K13	500 ppm selama 5 menit	0 ppm
K14	500 ppm selama 5 menit	2 ppm
K15	500 ppm selama 5 menit	4 ppm
K16	500 ppm selama 5 menit	6 ppm
K17	100 ppm selama 10 menit	0 ppm
K18	100 ppm selama 10 menit	2 ppm
K19	100 ppm selama 10 menit	4 ppm
K20	100 ppm selama 10 menit	6 ppm
K21	250 ppm selama 10 menit	0 ppm
K22	250 ppm selama 10 menit	2 ppm
K23	250 ppm selama 10 menit	4 ppm
K24	250 ppm selama 10 menit	6 ppm

Parameter yang diamati meliputi persentase eksplan steril, persentase eksplan survive, kontaminasi bakteri, kontaminasi jamur, serta kedinian kontaminasi yang dihitung sejak awal penanaman hingga muncul gejala kontaminasi pada eksplan. Penggunaan kombinasi media dasar dan konsentrasi AgNPs dalam penelitian ini didasarkan pada pendekatan yang telah digunakan pada penelitian kultur antera tembakau secara *in vitro* (Khozin *et al.*, 2025).

Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan faktor yang diamati yaitu kombinasi konsentrasi dan lama perendaman eksplan serta pemberian konsentrasi AgNPs pada media. Faktor terdiri dari 24 taraf, dengan masing-masing taraf yang diulang sebanyak 3 kali yang tertera pada Tabel 1.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemberian kombinasi konsentrasi dan lama perendaman eksplan serta pemberian konsentrasi AgNPs pada media memiliki pengaruh dengan kecenderungan yang berbeda-beda. Keberhasilan kultur jaringan dapat dilihat dari jumlah eksplan steril yang mengalami respon ditandai dengan pembengkakan pada eksplan kemudian diiringi dengan munculnya kalus pada eksplan. Tabel 2 merupakan data persentase eksplan steril sekaligus *survive*.

3.1 Eksplan Steril dan *Survive*

Kondisi steril menjadi salah satu faktor keberhasilan pada kultur jaringan, akan tetapi kontaminasi juga menjadi faktor pembatas pada keberhasilan kultur jaringan. Persentase eksplan steril menunjukkan tingkat efektifitas metode serta konsentrasi bahan yang digunakan pada proses sterilisasi. Nilai persentase steril dan *survive* yang tinggi menandakan bahwa metode serta konsentrasi

bahan yang digunakan efektif untuk digunakan pada proses sterilisasi eksplan daun lapang tanaman porang. Berdasarkan data pada Tabel 2, dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh nilai persentase eksplan *survive* memiliki jumlah yang sama dengan persentase eksplan steril.

Sterilisasi dasar yang dilakukan (kombinasi konsentrasi dan lama perendaman eksplan serta pemberian konsentrasi AgNPs pada media) kurang efektif dalam menekan kontaminasi pada eksplan, akan tetapi dengan menambahkan perlakuan AgNPs pada media dapat menekan kontaminasi pada eksplan. Dapat dilihat pada Tabel 2, nilai persentase eksplan steril yang semakin meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi perlakuan kombinasi AgNPs pada media. Hal tersebut serupa terjadi pada penelitian Rostami (2009) yang menyatakan bahwa penambahan nanopartikel perak pada media kultur *in vitro* tanaman zaitun tidak berpengaruh nyata terhadap menekan kontaminasi, tetapi dapat mengurangi tingkat kontaminasi dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan nanopartikel perak pada media.

Perlakuan K6-K24 memiliki persentase eksplan steril dan *survive* sebesar 100%. Kombinasi konsentrasi dan lama perendaman eksplan serta pemberian konsentrasi AgNPs pada media dalam sterilisasi eksplan daun porang diduga memiliki hubungan terhadap tingkat persentase eksplan steril dan *survive*. Semakin meningkat konsentrasi AgNPs yang ditambahkan pada media dan perendaman saat sterilisasi eksplan, persentase eksplan steril dan *survive* juga semakin meningkat. Dwiyan (2015) menjelaskan bahwa konsentrasi, bahan dan waktu perendaman merupakan faktor penting dalam sterilisasi eksplan yang diperoleh berdasarkan percobaan yang dilakukan berulang kali, seperti konsentrasi bahan yang tinggi dapat bersifat toksik bagi tanaman, sedangkan konsentrasi bahan yang rendah kurang efektif menekan kontaminasi oleh mikroorganisme.

Tabel 2. Persentase Eksplan Steril dan *Survive* pada Kombinasi Konsentrasi dan Lama Perendaman Eksplan Serta Pemberian Konsentrasi AgNPs pada Media

Perlakuan	Konsentrasi dan Lama Perendaman Eksplan pada AgNPs	Konsentrasi AgNPs pada Media	Persentase Eksplan (%)	
			Steril	<i>Survive</i>
K1	0 ppm selama 0 menit	0 ppm	0	0
K2	0 ppm selama 0 menit	2 ppm	33,33	33,33
K3	0 ppm selama 0 menit	4 ppm	66,67	66,67
K4	0 ppm selama 0 menit	6 ppm	66,67	66,67
K5	100 ppm selama 5 menit	0 ppm	33,33	33,33
K6	100 ppm selama 5 menit	2 ppm	100	100
K7	100 ppm selama 5 menit	4 ppm	100	100
K8	100 ppm selama 5 menit	6 ppm	100	100
K9	250 ppm selama 5 menit	0 ppm	100	100
K10	250 ppm selama 5 menit	2 ppm	100	100
K11	250 ppm selama 5 menit	4 ppm	100	100
K12	250 ppm selama 5 menit	6 ppm	100	100
K13	500 ppm selama 5 menit	0 ppm	100	100
K14	500 ppm selama 5 menit	2 ppm	100	100
K15	500 ppm selama 5 menit	4 ppm	100	100
K16	500 ppm selama 5 menit	6 ppm	100	100
K17	100 ppm selama 10 menit	0 ppm	100	100
K18	100 ppm selama 10 menit	2 ppm	100	100
K19	100 ppm selama 10 menit	4 ppm	100	100
K20	100 ppm selama 10 menit	6 ppm	100	100
K21	250 ppm selama 10 menit	0 ppm	100	100
K22	250 ppm selama 10 menit	2 ppm	100	100
K23	250 ppm selama 10 menit	4 ppm	100	100
K24	250 ppm selama 10 menit	6 ppm	100	100

Pratiwi *et al.* (2021) dalam penelitiannya menjelaskan, bahwa bahan sterilan berupa alkohol dan natrium hipoklorit (NaOCl) memiliki sifat toksisitas relatif tinggi, sehingga peningkatan konsentrasi bahan maupun durasi perendaman dapat menyebabkan jaringan pada eksplan rusak serta resiko kematian pada eksplan juga semakin meningkat. Penelitian Parzymies (2021) menyatakan, bahwa sterilisasi menggunakan etanol (EtOH) dan natrium hipoklorit (NaOCl) serta pemberian AgNPs pada media menunjukkan hasil paling baik terhadap jumlah eksplan tidak terkontaminasi (100%), akan tetapi semua eksplan juga mengalami kerusakan, berdasarkan hasil penelitiannya sterilisasi permukaan menggunakan etanol tidak efektif menekan kontaminan bakteri dan jamur dibandingkan dengan menggunakan natrium hipoklorit, kemudian penambahan AgNPs pada media memiliki jumlah eksplan steril lebih tinggi pada seluruh perlakuan. Tingginya persentase eksplan steril pada penelitian ini menunjukkan bahwa AgNPs mampu menghambat perkembangan mikroorganisme selama fase awal kultur. Ion Ag^+ yang dilepaskan dari nanopartikel diketahui dapat merusak membran sel mikroba, mengganggu aktivitas enzim, dan menghambat replikasi DNA sehingga menurunkan peluang terjadinya kontaminasi (Ariyanta, 2016; Dhir *et al.*, 2024). Selain berperan sebagai agen antimikroba, AgNPs juga berfungsi sebagai elicitor yang mampu memodulasi keseimbangan ROS sehingga meningkatkan aktivitas metabolisme sel dan mendukung proses regenerasi pada kultur *in vitro*..

Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan Khozin *et al.* (2026) yang melaporkan bahwa penggunaan AgNPs pada konsentrasi rendah bersifat promotif terhadap respon kultur *in vitro*, sedangkan peningkatan konsentrasi AgNPs justru dapat menurunkan viabilitas dan respon regenerasi. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas AgNPs sangat dipengaruhi oleh konsentrasi serta sistem kultur yang digunakan. Tingginya keberhasilan eksplan steril pada penelitian ini tidak hanya dipengaruhi oleh kemampuan AgNPs dalam menekan pertumbuhan mikroorganisme, tetapi juga diduga berkaitan dengan meningkatnya kemampuan jaringan dalam mempertahankan aktivitas metabolisme selama fase awal kultur. Nanopartikel perak juga diketahui berperan dalam menekan biosintesis etilen sehingga proses penuaan jaringan dapat diperlambat dan kemampuan organogenesis tetap terjaga selama kultur berlangsung (Naing *et al.*, 2023).

Penelitian pada kultur antera tembakau menunjukkan bahwa AgNPs pada konsentrasi rendah mampu meningkatkan pembentukan kalus, regenerasi tunas, serta pembentukan akar dibandingkan konsentrasi yang lebih tinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan AgNPs tidak hanya berfungsi sebagai antikonaminan tetapi juga berperan sebagai stimulator regenerasi apabila diaplikasikan pada konsentrasi optimum (Khozin *et al.*, 2026). Keberhasilan regenerasi jaringan tanaman juga sangat dipengaruhi oleh komposisi zat pengatur tumbuh yang digunakan pada media kultur. Penggunaan Benzyl Aminopurine (BAP) maupun Furfuryl Aminopurine (Kinetin) dilaporkan mampu meningkatkan multiplikasi tunas dan mempercepat pembentukan organ baru pada kultur tembakau melalui metode *Thin Cell Layer* (TCL). Keberhasilan pembentukan tunas pada penelitian ini menunjukkan bahwa kemampuan regenerasi eksplan sangat dipengaruhi oleh aktivitas pembelahan sel yang dipacu oleh zat pengatur tumbuh, terutama sitokinin. Benzyl Amino Purine (BAP) diketahui berperan penting dalam merangsang pembentukan tunas adventif melalui peningkatan aktivitas meristem dan diferensiasi jaringan sehingga menghasilkan multiplikasi tunas yang lebih tinggi pada kultur *in vitro*. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Restanto *et al.* (2024) yang melaporkan bahwa kombinasi sitokinin BAP dan auksin NAA mampu meningkatkan organogenesis langsung pada porang. Interaksi kedua hormon tersebut berperan dalam mengatur pembelahan sel, diferensiasi jaringan, dan pembentukan titik tumbuh sehingga mempercepat regenerasi eksplan. (Restanto *et al.*, 2024). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa keberhasilan kultur *in vitro* merupakan hasil interaksi antara kondisi aseptik, media kultur, serta keseimbangan zat pengatur tumbuh (Khozin *et al.*, 2025a; Khozin & Mona, 2025). Selain organogenesis, regenerasi

tanaman melalui embriogenesis somatik juga sangat dipengaruhi oleh keseimbangan zat pengatur tumbuh. Penggunaan Thidiazuron (TDZ) pada konsentrasi optimum mampu meningkatkan pembentukan embrio somatik melalui stimulasi pembelahan sel dan diferensiasi jaringan yang lebih efektif dibandingkan tanpa penambahan hormon (Restanto *et al.*, 2023). Keberhasilan regenerasi jaringan tanaman tidak hanya dipengaruhi oleh kondisi aseptik, tetapi juga oleh keseimbangan zat pengatur tumbuh, komposisi media dasar, serta kemampuan fisiologis eksplan dalam merespons lingkungan kultur (Loyola-Vargas & Ochoa-Alejo, 2018).

3.2 Kontaminasi Bakteri dan Jamur

Steril merupakan kunci keberhasilan pada kultur jaringan. Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi beberapa komponen seperti media, eksplan, bahan dan alat, serta lingkungan yang steril (Apriliyani *et al.*, 2021). Kontaminasi merupakan kendala yang sering terjadi pada kultur jaringan. Terjadinya kontaminasi disebabkan oleh adanya mikroorganisme seperti bakteri dan jamur yang tumbuh dan berkembang pada eksplan atau media kultur (Yuliarti, 2010).

Kontaminasi bakteri terjadi disebabkan oleh sumber eksplan yang berasal dari lapang diduga memiliki kemungkinan besar membawa mikroorganisme bakteri yang menempel pada permukaan tanaman melalui udara. Kontaminasi oleh bakteri ditandai dengan munculnya lendir berwarna putih pada media di sekeliling eksplan yang bermula dari permukaan eksplan (Gambar 2). Kontaminasi bakteri dapat menjadikan eksplan mengalami perubahan warna menjadi kecokelatan (*browning*) yang dapat membuat pertumbuhan eksplan terhambat, bahkan berujung pada kematian eksplan. Penyebaran kontaminasi bakteri dapat berjalan dengan cepat melihat media pada kultur jaringan kaya kandungan hara, sehingga perlu segera dilakukan penyelamatan (*rescue*) pada eksplan yang belum terkontaminasi. Walaupun keberhasilan sterilisasi merupakan tahap awal yang sangat penting, keberhasilan kultur *in vitro* tetap memerlukan media yang mampu mendukung pembelahan sel dan regenerasi jaringan. Penelitian sebelumnya pada kultur tembakau menunjukkan bahwa eksplan yang berhasil dipertahankan dalam kondisi aseptik memiliki kemampuan regenerasi yang lebih tinggi apabila didukung oleh kombinasi media kultur dan zat pengatur tumbuh yang sesuai (Khozin *et al.*, 2025a; Khozin *et al.*, 2025c).

Kontaminasi jamur pada eksplan akan terlihat hifa seperti kumpulan benang berwarna putih pada sekitar permukaan eksplan (Gambar 2). Eksplan sebelumnya telah terinfeksi spora jamur terlebih dahulu kemudian tumbuh setelah ditanam di media. Kondisi lingkungan pada media yang cukup lembab serta kaya kandungan hara berpengaruh terhadap persebaran kontaminasi jamur menjadi sangat cepat. Kedinian kontaminasi bakteri bermula dari munculnya titik koloni di sekitar eksplan berwarna putih yang kemudian menyebar pada permukaan media. Seiring berjalannya waktu, lendir akan meluas ke seluruh permukaan media serta terjadi perubahan warna lendir menjadi kecokelatan.



Gambar 2. Kontaminasi Bakteri (A), Kontaminasi Jamur (B), Kedinian Kontaminasi Bakteri (C), dan Kedinian Kontaminasi Jamur (D).

Kedinian kontaminasi jamur pada eksplan diawali dengan munculnya hifa berwarna putih pada sebagian permukaan eksplan. Jamur yang menginfeksi eksplan kemudian tumbuh dan meluas pada media di sekitar permukaan eksplan, hal ini disebabkan oleh spora jamur yang telah menginfeksi pada sekitar eksplan. Kedinian eksplan kontaminasi bakteri dan jamur terhitung sejak awal penanaman eksplan hingga muncul gejala kontaminasi. Kedinian kontaminasi menunjukkan kecepatan munculnya gejala kontaminasi pada eksplan setelah penanaman dan digunakan sebagai indikator jenis serta sumber kontaminasi (Andriani, 2021). Penggunaan AgNPs pada media kultur berpotensi memperpanjang kondisi aseptik karena nanopartikel tetap aktif selama periode inkubasi sehingga mampu menghambat perkembangan bakteri maupun jamur yang masih tersisa pada eksplan (Parzymies, 2021; Senarath, 2024). Keberhasilan kultur in vitro tidak hanya ditentukan oleh keberhasilan sterilisasi, tetapi juga dipengaruhi oleh kemampuan eksplan mempertahankan aktivitas pembelahan sel dan organogenesis. Oleh karena itu, optimasi media kultur dan penggunaan nanopartikel perlu dilakukan secara bersamaan (Khozin et al., 2025; Singh & Ahamad, 2022).

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini mendukung berbagai penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa peningkatan keberhasilan kultur in vitro tidak hanya ditentukan oleh efektivitas sterilisasi, tetapi juga dipengaruhi oleh media kultur, nanopartikel perak, zat pengatur tumbuh, serta kemampuan regenerasi jaringan tanaman. Oleh karena itu, integrasi teknologi nanomaterial dengan optimasi media kultur menjadi pendekatan yang menjanjikan dalam meningkatkan efisiensi kultur in vitro pada berbagai komoditas tanaman (Khozin et al., 2025a; Khozin et al., 2025b; Khozin et al., 2025c; Khozin et al., 2026).

4. KESIMPULAN

Kombinasi konsentrasi dan lama perendaman eksplan serta pemberian konsentrasi AgNPs pada media kultur jaringan tanaman porang memiliki pengaruh dengan kecenderungan yang berbeda-beda. Perlakuan K6 (5 menit, 100 ppm + media 2 ppm) memiliki kecenderungan terbaik pada parameter persentase eksplan steril dan *survive*. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengevaluasi pengaruh AgNPs terhadap stabilitas genetik, respon fisiologis, dan keamanan penggunaannya pada berbagai jenis tanaman sehingga aplikasinya dapat dioptimalkan dalam sistem kultur in vitro.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Laboratorium Ekofisiologi (Kultur Jaringan) Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah memfasilitasi penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, A., A. Supriyatna, N.N. Amalia, M.E. Muhsin, R. Annisa, and S.F. Solihah. 2021. Optimasi sterilisasi eksplan umbi dan bulbil porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) pada kultur *in vitro*. *Agroscript: Journal of Applied Agricultural Sciences*. 3(2): 121–131.
- Andayanie, W.R. 2016. Pengembangan produksi kedelai sebagai upaya kemandirian pangan di Indonesia. Madiun: Universitas Merdeka Madiun. https://unmermadiun.ac.id/repository_jurnal_penelitian/Wuye%20Riya/Diskripsi%20buku%20teks.pdf. Diakses pada tanggal 10 Desember 2022.
- Andriani, D., and P. Heriansyah. 2021. Identifikasi jamur kontaminan pada berbagai eksplan kultur jaringan anggrek alam (*Bromheadia finlaysoniana* (Lind.) Miq.). *Agro Bali: Agricultural Journal*. 4(2): 192–199.

- Apriliyani, R., and B.F. Wahidah. 2021. Perbanyak anggrek *Dendrobium* sp. secara *in vitro*: faktor-faktor keberhasilannya. *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi*. 1(2): 33–46.
- Ariyanta, H.A. 2016. Preparasi nanopartikel perak dengan metode reduksi dan aplikasinya sebagai antibakteri penyebab luka infeksi. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*. 10(1): 36–42.
- Dhir, R., S. Chauhan, P. Subham, S. Kumar, P. Sharma, A. Shidiki, and G. Kumar. 2024. Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles: Unlocking their pharmacological potential – a comprehensive review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 11(1324805): 1-24.
- Dwiyani, R. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman*. Udayana University Press. Denpasar.
- George, E.F., M.A. Hall, and G.J. De Klerk. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3rd edn. Dordrecht. Springer.
- Gultom, R.D.K. 2021. Konsentrasi dan lama perendaman ZPT auksin dalam pemecahan dormansi dan pertumbuhan tunas bulbil porang (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 1(November): 1–15.
- Gunasena, M.D.K.M., A.M.P.D. Alahakoon, K.P.G.D.M. Polwaththa, G.D.C.P. Galpaya, H.A.S.A. Priyanjani, K.R. Koswattage, W.T.P.S.K. Senarath. 2024. Transforming plant tissue culture with nanoparticles: A review of current applications. *Plant Nano Biology*. 10(100102): 1-9.
- Ibrahim, M.S.D. 2019. Perbanyak iles-iles (*Amorphophallus* spp.) secara konvensional dan kultur *in vitro* serta strategi pengembangannya. *Perspektif*. 18(1): 67–78.
- Khozin, M.N., and M.D.S. Mona. 2025. Induction and regeneration of tobacco callus using benzyl aminopurine (BAP) and furfuryl aminopurine (Kinetin) with thin cell layer (TCL) technique. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 1497(012017): 1-12.
- Khozin, M.N., Y.D. Ahnaf, P. Dewanti, and D.P. Restanto. 2025. Respon kultur antera tembakau terhadap media bernutrisi dan AgNPs secara *in vitro*. *AGRO*. 12(2): 247–262.
- Khozin, M.N., Y.D. Ahnaf, P. Dewanti, and D.P. Restanto. 2026. Combination effect of culture media and silver nanoparticle on the effectiveness of tobacco anther regeneration. *HAYATI Journal of Biosciences*. 33(3): 681–693.
- Khozin, M.N., M.D.S. Mona, P. Dewanti, W.K. Putri, S. Soeparjono, and D.P. Restanto. 2025. Multiplikasi tunas tembakau secara *in vitro* menggunakan benzyl amino purine dan furfuryl amino purine melalui metode *thin cell layer*. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*. 18(2): 349–361.
- Lindriati, T., H. Herlina, and J.N. Emania. 2018. Sifat fisik daging analog berbahan dasar campuran tepung porang (*Amorphophallus oncophyllus*) dan isolat protein kedelai. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*. 22(2): 175–186.
- Loyola-Vargas, V.M. and N. Ochoa-Alejo. 2018. *Plant Cell Culture Protocols*. 3rd edn. Humana Press. New York.
- Naing, A.H., C.K. Kim, and K.B. Lim. 2023. Silver nanoparticles in plant tissue culture: Recent advances and future perspectives. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 154: 1–18.
- Parzymies, M. 2021. Nano-silver particles reduce contaminations in tissue culture but decrease regeneration rate and slow down growth and development of *Aldrovanda vesiculosa* explants', *Applied Sciences*, 11(3653): 1-11.
- Prasad, A., J. Sidhic, P. Sarbadhikary, A. Narayanankutty, S. George, B.P. George, and H. Abrahamse. 2024. Role of metal nanoparticles in organogenesis, secondary metabolite production and genetic transformation of plants under *in vitro* condition: A comprehensive review', *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 158(33): 1-18.
- Pratiwi, D.R., S. Wening, E. Nazri, and Y. Yenni. 2021. Penggunaan alkohol dan sodium hipoklorit sebagai sterilan eksplan pada kultur jaringan. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*. 29(1): 1-10.
- Rai, M., A. Yadav, and A. Gade. 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 27(1): 76–83.

- Rananda, A.I. and M.N. Khozin. 2023. The effect of different sterilization methods on obtaining sterile leaf explants of porang (*Amorphophallus muelleri* B.). *Journal of Soilscape and Agriculture*. 2(1): 1–11.
- Restanto, D.P., F.L. Hanifah, M.C. Prayoga, F. Zahro, and M.N. Khozin. 2024. Multiplikasi tunas pada eksplan rimpang kunyit hitam (*Kaempferia parviflora*) dengan penambahan hormon BAP. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 9(3): 330–340.
- Restanto, D.P., I. Felayati, W.I.D. Fanata, P. Dewanti, B. Kriswanto, M.N. Khozin, and M.C. Prayoga. 2023. Optimization of TDZ hormone on the formation of somatic embryogenesis in *Dendrobium* orchids (*D. 50TH Stage Beauty* × *D. Bobby Mesina*). *Jurnal Natur Indonesia*. 21(1): 42–46.
- Restanto, D.P., S.P. Aji, E. Handayani, T. Ratnasari, M.W. Jadmiko, M.C. Prayoga, M.N. Khozin, and B. Kriswanto. 2024. The effect of benzyl amino purine and naphthaleneacetic acid applications on direct shoot organogenesis in porang (*Amorphophallus muelleri* B.). *Planta Tropika*. 12(1): 73–83.
- Rohela, G.K., P. Saini, D. Aziz, S. Rafiq, P. Jogam, and B. Zhang. 2024. Nanoparticles as elicitors and stimulators for plant tissue culture, transgenics, and genome editing: A comprehensive review', *Industrial Crops and Products*. 222(120097): 1-17.
- Saefudin, S., M. Syakir, S. Sakiroh, and M. Herman. 2021. Pengaruh bobot dan perendaman bulbil terhadap viabilitas dan pertumbuhan porang (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Journal of Industrial and Beverage Crops*. 8(2): 79–86.
- Shofiyani, A., A.M. Purnawanto, and R.Z.A. Aziz. 2020. Pengaruh berbagai jenis sterilan dan waktu perendaman terhadap keberhasilan sterilisasi eksplan daun kencur (*Kaempferia galanga* L.) pada teknik kultur *in vitro*. *Agritech: Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto*. 22(1): 29-39.
- Singh, R. and S. Ahamad. 2022. Integration of nanotechnology in plant tissue culture. *Current Biotechnology*. 18(5): 604–610.
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Penerbit Andi. Yogyakarta.